

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-125600

(43) 公開日 平成11年(1999) 5月11日

(51) Int.Cl.⁶

G 0 1 N 21/78
31/00

識別記号

F I

G 0 1 N 21/78
31/00

C

H

審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願平9-289515

(22) 出願日 平成 9 年 (1997) 10 月 22 日

(71) 出願人 000173577

財団法人河川情報センター

東京都千代田区麹町 1 丁目 3 番地

(71) 出願人 591086706

軽部 征夫

神奈川県川崎市宮前区東有馬 1 丁目 3 番地
16

(72) 発明者 軽部 征夫

神奈川県川崎市宮前区有馬 1 丁目 3 番16号

(72) 発明者 西原 巧

東京都千代田区麹町 1 丁目 3 番地 財団法
人 河川情報センター 内

(74) 代理人 弁理士 佐々木 功 (外 1 名)

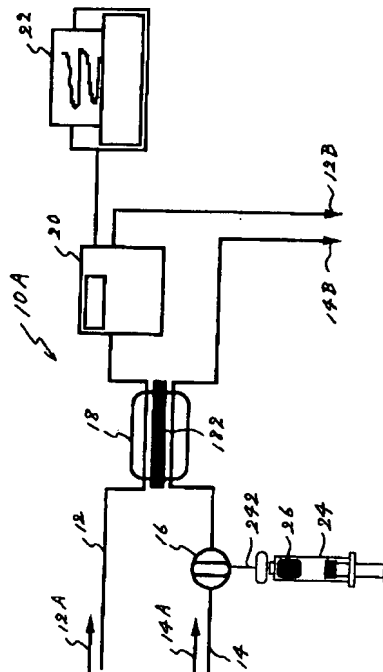
(54) 【発明の名称】 窒素化合物イオンの高感度測定法及びそのための装置

(57) 【要約】

【課題】 窒素化合物イオンの高感度測定法及びそのための装置を提供する。

【解決手段】 河川水等の試料中のアンモニウムイオン、硝酸イオン及び亜硝酸イオンをアンモニアとなし、ガス透過膜を有する反応室内において該アンモニアとガス透過膜を隔てて反応室内に流入する蛍光反応試薬とを反応させて蛍光物質を形成させ、この反応液の蛍光強度変化を測定し、応答値を検量線に照合して上記窒素化合物イオンの濃度を測定する。反応室に流入する前に試料を還元性金属と接触させれば上記のアンモニアへの変換が確実になる。主たる所要機器はフローセル付き蛍光検出器とインテグレーターのみである。

【効果】 従来の吸光度法と比較して操作が極めて簡便であり、感度が高く且つ所要時間が極めて短く、イオンクロマトグラフィー法と比較する場合に測定機器が廉価である。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 ガス透過性膜を備えた反応室に蛍光反応試薬を導き、一方キャリアーとしての緩衝液に試料溶液を混入し、試料溶液中のアンモニウムイオン、硝酸イオン及び亜硝酸イオンをアンモニアに変じた上で上記の反応室に導き上記のガス透過性膜を経てアンモニアと蛍光反応試薬とを反応させ、生成した蛍光物質の蛍光を検出し、蛍光強度の時間的変化を測定し、この測定値と上記のイオン濃度との関係を示す検量線に照合することを特徴とする、窒素化合物イオンの高感度測定法。

【請求項2】 蛍光反応試薬が *o*-フタルアルデヒド、プロモクレゾールグリーン又はカルボキシジメチルフルオレセインとチオール化合物とを組み合わせたものであることを特徴とする、請求項1に記載の窒素化合物の高感度測定法。

【請求項3】 蛍光反応試薬が *o*-フタルアルデヒドと2-メルカプトエタノールを含有していることを特徴とする、請求項1又は2に記載の窒素化合物イオンの高感度測定法。

【請求項4】 試料溶液のキャリアーとしての緩衝液のpHが11又はそれ以上であることを特徴とする、請求項1-3の何れか1つに記載の窒素化合物イオンの高感度測定法。

【請求項5】 蛍光反応試薬と反応させる前に試料溶液を還元性金属と接触させることを特徴とする、請求項1-4の何れか1つに記載の窒素化合物イオンの高感度測定法。

【請求項6】 還元性金属が銅、アルミニウム又は亜鉛単独又は混合物或いはデバルダ合金であることを特徴とする、請求項5に記載の窒素化合物イオンの高感度測定法。

【請求項7】 蛍光強度の測定が蛍光強度のピーク面積の測定であることを特徴とする、請求項1に記載の窒素化合物の高感度測定法。

【請求項8】 蛍光反応試薬の流路と、緩衝液の流路と、ガス透過性膜を隔てて蛍光反応試薬と緩衝液とが接触する反応室と、緩衝液の流路であって上記反応室の上流側に設けられた試料溶液用のインジェクターと、蛍光反応試薬の流路であって上記反応室の下流側に設けられた蛍光測定装置と、該蛍光測定装置の測定データを出力するインテグレーターとを具備していることを特徴とする、窒素化合物イオンの高感度測定装置。

【請求項9】 緩衝液の流路であってインジェクターと反応室の間に還元性金属を充填したカラムが設けられていることを特徴とする、請求項8に記載の窒素化合物イオンの高感度測定装置。

【請求項10】 インジェクターを経て試料溶液を緩衝液の流路に注入するシリンジを備えており、該シリンジ内にフィルタを介して還元性金属が充填されていることを特徴とする、請求項8に記載の窒素化合物イオンの

高感度測定装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は窒素化合物イオンの高感度測定法及びそのための装置に係り、殊に環境中、例えば酸性雨、河川水中等に存在する窒素化合物イオンであるアンモニウムイオン、硝酸イオン及び亜硝酸イオンをアンモニアに還元し、該アンモニアと蛍光反応試薬とを反応させ、蛍光強度を測定することにより行う窒素化合物イオンの高感度測定法及びそのための装置に係る。

【0002】

【従来の技術及びその課題】環境中に存在する上記の窒素化合物イオンを測定する方法は種々提案されているが、汎用されている代表的な方法はインドフェノール法等の比色法（吸光光度法）とイオンクロマトグラフィー法である。

【0003】比色法により定量的な結果を得るためには吸光度測定を度々行う必要性があり、その際に試料中に含まれている埃等の光散乱物質の影響により正しい定量ができなくなる場合がある。尚、比色法により測定可能な分子は1種類のみであり、試料である酸性雨や河川水中に存在するアンモニウムイオン、硝酸イオン及び亜硝酸イオンの濃度を測定するためには、それぞれ対応した別個の測定系を準備しなければならない点に課題がある。

【0004】一方、イオンクロマトグラフィー法は測定精度が高く、従って正確であるが、装置自体及びカラムが高価である点及び熟練技術者による操作の要求される場合がある点に課題があり、又多数の測定ポイントに設置して現場で測定を行う上には不適當である点に課題がある。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明が解決しようとする課題乃至発明の目的は、操作が簡便な窒素化合物イオンの高感度測定法及びそのための装置を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明方法によれば、ガス透過性膜を備えた反応室に蛍光反応試薬を導き、一方キャリアーとしての緩衝液に試料溶液を混入し、試料溶液中のアンモニウムイオン、硝酸イオン及び亜硝酸イオンをアンモニアに変じた上で上記の反応室に導き上記のガス透過性膜を経てアンモニアと蛍光反応試薬とを反応させ、生成した蛍光物質の蛍光を検出し、蛍光強度の時間的変化を測定し、この測定値と上記のイオン濃度との関係を示す検量線に照合することを特徴とする窒素化合物イオンの高感度測定法により、上記の課題は解決されると共に、本発明の1目的が達成される。

【0007】本発明方法において蛍光反応試薬としては

10

20

30

40

50

o-フタルアルデヒド、ブロモクレゾールグリーン又はカルボキシジメチルフルオレセインと、2-メルカプトエタノール等のチオール化合物とを組み合わせ用いることができる。

【0008】本発明方法を実施する場合に、試料溶液中のアンモニウムイオン、硝酸イオン及び亜硝酸イオンのアンモニアへの変換はキャリアーである緩衝液として高いpHを有するもの、例えば pH 又はそれ以上のものを使用することにより可能であるが還元性金属、例えば銅、アルミニウム、亜鉛等を単独で又は組合せ、殊に銅、アルミニウム及び亜鉛の合金であるデバルダ合金と試料溶液を接触させるのが好ましい。

【0009】上記の本発明方法を実施するための装置は蛍光反応試薬の流路と、緩衝液の流路と、ガス透過性膜を隔てて蛍光反応試薬と緩衝液とが接触する反応室と、緩衝液の流路であって上記反応室の上流側に設けられた試料溶液用のインジェクターと、蛍光反応試薬の流路であって上記反応室の下流側に設けられた蛍光測定装置と、該蛍光測定装置の測定データを出力するインテグレーターとを具備していることを特徴としている。

【0010】本発明による装置において、緩衝液の流路であって上記のインジェクターと反応室の間には上記の還元性金属を充填したカラムを備えていることができる。

【0011】本発明による装置において、上記のインジェクターを経て試料溶液を緩衝液の流路に注入するシリンジを備えており、このシリンジ内にフィルタを介して還元性金属が充填されていることもできる。

【0012】蛍光測定装置としては、アンモニアと蛍光試薬とが反応して生成した蛍光物質の蛍光を高感度で検出できるものであれば使用可能であって格別な限定はなく、励起波長領域及び検出波長領域は 200 - 800nm 程度であることが重要であるが、蛍光反応試薬の種類によっては励起波長及び検出波長が固定されたものであっても差し支えない。

【0013】インテグレーターとしては、蛍光測定装置からのデータを正確に出力できるものであれば使用可能であるが、蛍光強度の時間的変化を捉えて、1秒以下の時間分解能で時間積分できるものであることが好ましい。

【0014】

【発明の実施の形態】次に、本発明による窒素化合物の測定装置について図面を参照しつつ説明する。図1には本発明による測定装置10の概要が示されており、該図において12は蛍光反応試薬の流路であって、蛍光反応試薬は矢印12Aにより示される向きに送られ、矢印12Bにて示されるように系外に排出される。参照数字14により示されているのは酸性雨や河川水等の試料溶液(図示せず)のキャリアーとなる緩衝液の流路であって、該緩衝液は矢印14Aにより示される向きに送ら

れ、矢印14Bにて示されるように系外に排出される。この緩衝液としては試料中のアンモニウムイオン、硝酸イオン及び亜硝酸イオンをアンモニアに変換する能力を有する塩基性緩衝液が使用される。これらの蛍光反応試薬及び緩衝液の送液はポンプにより行われるが、安定な送液を可能にするためにペルスタルティックポンプが好ましく、流速は通常 70 - 300 μ l/min に設定するのが好ましい。

【0015】上記の蛍光反応試薬及びインジェクター16を経て試料溶液の注入された緩衝液は反応室18に送られる。該反応室はガス透過性膜182を備えており、上記の蛍光反応試薬と試料含有緩衝液は該ガス透過性膜を隔てて接触し、緩衝液中のアンモニアはガス透過性膜を透過し蛍光反応試薬と接触して反応することにより蛍光物質を生成する。例えば、インジェクター16を経て注入される試料溶液がアンモニウムイオンを含有している場合に、アンモニウムイオンの pKa 値は9.24であるから、試料溶液のキャリアーである緩衝液として pH が 9.24 以上のものを採択すればアンモニウムイオンはアンモニアとなってガス化し、反応室18内においてガス透過性膜182を透過して蛍光反応試薬の流路に入り、蛍光物質を形成することになるのである。上記のガス透過性膜の材質としては耐薬品性に優れており、アンモニアを常温において容易に透過させるものであれば種類を問わないが、例えばテフロン(商標)であることができる。

【0016】試料中の窒素化合物イオンをアンモニアに変換してガス化するのを助成するために、緩衝液の流路14において且つインジェクター16と反応室18との間には還元用カラム(図示せず)を配置することができる。このカラムは両端にメンブレンフィルターを配し、内部に少量の還元性金属、例えば銅、アルミニウム又は亜鉛の単体或いは混合物若しくはこれらの3種類の金属からなる合金であるデバルダ合金製の粒子を充填して構成されている。

【0017】反応室を通過した試料含有緩衝液は、既述のように且つ矢印14Bにて示されているように系外に廃棄され、一方蛍光物質含有液は反応室18から蛍光測定装置20に導かれて蛍光強度が測定された後に、既述のように且つ矢印12Bにて示されているように系外に廃棄される。上記の蛍光測定装置20により得られたデータはインテグレーター22に送られて、蛍光強度の時間的変化として捉えられ、記録される。

【0018】図2には図1に示されている装置と同様の、但しシリンジ24を用いて緩衝液の流路14への試料溶液の注入を行い、この場合に該シリンジを、その内部にメンブレンフィルターと還元性金属粒子とを配して形成された還元用カラム26の収容用容器としても利用し、試料中の窒素化合物イオンのアンモニアへの変換を助成するようになされた装置10Aが示されている。上

記のシリンジ 24 としては市販のものであることができるが、このシリンジにおけるニードル 242 の先端はインジェクター 16 の内部に傷を与えないように丸くなされている。又、シリンジ及びニードルの材質は塩基性試薬に対して耐性を有しているべきである。尚、この装置 10A を用いた測定方法は図 1 に示されている装置 10 の場合と全く同一なので、説明を省略する。

【0019】

【実施例】以下においては予備試験例及び測定試験例により本発明を更に詳細に説明するが、これらの試験例において共通に使用された蛍光反応試薬及び機器は下記の通りである。

蛍光反応試薬 : α -フタルアルデヒド (Aldrich 社製) のエタノール溶液 (0.084g/ml) 2.5ml に pH 9.5 の 0.4M 硼酸-NaOH 緩衝液 150ml を添加・混合し、これに 2-メルカプトエタノール (Merck 社製) のエタノール溶液 (0.0056g/ml) 2.5ml と、酸化防止剤としてアスコルビン酸 (和光純薬工業株式会社製の特級品) の水溶液 (0.18g/ml) 1.5ml を添加・混合して調製し、室温で約 1 時間放置後に使用。

送液ポンプ : Gilson 社製の Minipuls-3 (商標) であるペリスタルティックポンプ。

ガス透過性膜 : 市販のテフロン (商標) 製のもの。

蛍光測定装置 : 日本分光株式会社製の 821-FP 型フローセル付き蛍光検出器 (励起波長 : 350nm、測定波長 : 486nm)。

インテグレーター : 日立株式会社製の D-2500 型インテグレーター。

【0020】予備試験例 1 (アンモニウムイオン濃度に対する応答)

市販の 1000mg/l アンモニア標準液 (東亜電波工業株式会社製の塩化アンモニウム溶液) を適宜希釈してアンモニウムイオン濃度が 10mg/l までの溶液を調製して試料溶液とし、pH 9.5 の 0.4M 硼酸-NaOH 緩衝液を試料溶液用のキャリアー溶液とし且つ図 1 に示されている装置を使用して蛍光強度を測定した。結果は図 3 に示されている通りであり、濃度が 0.01mg/l から応答が得られ、0.04mg/l からは極めて良好な直線性を示した (相関係数 : 0.9996)。本発明は実試料として酸性雨、河川水等を想定している関係上、アンモニウムイオン濃度が 10mg/l までの溶液を試料溶液として測定が行われたが、更に高濃度の場合においても直線的な応答を示すものと推定される。

【0021】予備試験例 2 (応答値に及ぼす温度の影響)

図 1 に示されている装置を使用し、反応室の上流側における蛍光反応試薬及び緩衝液の流路を加温すると共に、アンモニウムイオン濃度が 10mg/l の溶液を調製して試料溶液とし且つ pH 9.5 の 0.4M 硼酸-NaOH 緩衝液を試料用のキャリアー溶液として蛍光強度を測定した。

結果は図 4 に示されている通りであり、液温が高くなる程アンモニアガスが発生し易くなって大きな応答値の得られることが判明した。液温の設定は 65°C 迄であったが、理論的には液温が高い程、応答値は大きくなるものと推定される。

【0022】予備試験例 3 (応答値に及ぼす流速の影響)

図 1 に示されている装置を使用し、アンモニウムイオン濃度が 10mg/l の溶液を調製して試料溶液とし、pH 9.5 の 0.4M 硼酸-NaOH 緩衝液を試料溶液のキャリアー溶液とし、送液用のペリスタルティックポンプの回転数を変化させて蛍光強度を測定することにより応答値を比較した。結果は図 5 に示されている通りであり、ポンプの回転数が 154 μ l/min の場合に最も大きな応答値を示すことが判明した。その理由はキャリアー溶液の流速が 154 μ l/min 以上であると、発生したアンモニアガスがガス透過性膜を透過して完全に拡散する前に蛍光検出装置の検出部を通過してしまうためであると推定され、流速は 70 - 300 μ l/min の範囲内に、殊に 150 μ l/min 程度に設定すべきであることが判明した。

【0023】予備試験例 4 (キャリアー溶液の pH が応答値に及ぼす影響)

図 1 に示されている装置を使用し、アンモニウムイオン濃度が 10mg/l の溶液を調製して試料溶液とし、pH 9 - 10.5 の 0.4M 硼酸-NaOH 緩衝液及び pH 11.5 - 12.0 の 0.4M Na_2HPO_4 -NaOH 緩衝液を試料溶液のキャリアー溶液とし、送液用のペリスタルティックポンプの回転数を調整することにより流速を 154 μ l/min に設定して蛍光強度を測定することにより応答値を比較した。結果は図 6 に示されている通りであり、pH 11 迄は pH 値が高い程応答値が大きくなるが、pH 11 以上では差が殆ど認められなかった。この原因としては、キャリアー溶液の pH が 11 程度であれば試料中のアンモニウムイオンが殆ど全部アンモニアガスに変化する、このアンモニアと α -フタルアルデヒドと 2-メルカプトエタノールとの反応が飽和状態に達した、ガス透過性膜がアンモニアガスの透過限界に達した等が考えられる。何れにせよ、キャリアー溶液として pH が 11 又はそれ以上の緩衝液を用いれば、常温においても、試料溶液中の窒素化合物イオンをほぼ完全にアンモニアに変換させることができることが判明した。

【0024】測定試験例 1 (硝酸イオン濃度に関する検量線)

図 2 に示されている通りの装置を用いて硝酸イオン濃度と蛍光強度のピーク面積との関係を調べた。硝酸ナトリウムを用いて硝酸イオン濃度が 0.1、3 及び 5mg/l の標準液を調製して試料溶液とし、試料溶液のキャリアー溶液としては pH 11.5 の 0.4M Na_2HPO_4 -NaOH 緩衝液を用い、流速を 154 μ l/min に設定し、測定温度は 25°C とした。

【0025】市販の使い捨て型シリンジの内部にメンブランフィルターを入れ、デバルダ合金微粒子 0.2g を充填し、4.5ml の硝酸イオン標準液をシリンジ内に吸引し、5分間経過後にキャリア用緩衝液の流路に注入して蛍光強度のピーク面積を測定した。結果は図 7 に示されている通りであり、応答値と硝酸イオン濃度との間には極めて良好な相関性 (相関係数 : 0.999) が得られた。この図 7 に示されるグラフは、 $\text{蛍光強度} = 247000 \times (\text{硝酸イオン濃度}) + 57500$ なる近似関係式で良好に表されるものであり、従って検量線として使用することができる。尚、硝酸イオン濃度が 5mg/l の場合における蛍光強度の相対標準偏差は 3.6% (n=5) であり、再現性も極めて良好なことも判明した。

【0026】測定試験例 2 (アンモニウムイオン濃度に関する検量線)

図 2 に示されている通りの装置を用いてアンモニウムイオン濃度と蛍光強度のピーク面積との関係を調べた。塩化アンモニウムを用いてアンモニウムイオン濃度が 0.05、0.1、0.25 及び 0.5mg/l の標準液を調製して試料溶液とし、試料溶液のキャリア溶液としては pH 1

1.5 の 0.4M Na_2HPO_4 -NaOH 緩衝液を用い、流速を 154 $\mu\text{l}/\text{min}$ に設定し、測定温度は 25°C とした。
【0027】市販の使い捨て型シリンジの内部にメンブランフィルターを入れ、デバルダ合金は使用せずに 4.5 ml のアンモニウムイオン標準液を導入し、5 分間経過後にキャリア用緩衝液の流路に注入して蛍光強度のピーク面積を測定した。結果は図 8 に示されている通りであり、応答値とアンモニウムイオン濃度との間には極めて良好な相関性 (相関係数 : 1.000) が得られた。この図 8 に示されるグラフは、 $\text{蛍光強度} = 867000 \times (\text{アンモニウムイオン濃度}) - 1900$ なる近似関係式で良好に表されるものであり、従って検量線として使用することができる。尚、アンモニウムイオン濃度が 0.5mg/l の場合における蛍光強度の相対標準偏差は 2.4% (n=5) であり、再現性も極めて良好なことも判明した。

【0028】測定試験例 3 (亜硝酸イオン濃度に関する検量線)

図 2 に示されている通りの装置を用いて亜硝酸イオン濃度と蛍光強度のピーク面積との関係を調べた。亜硝酸ナトリウムを用いて亜硝酸イオン濃度が 1 及び 2mg/l の標準液を調製して試料溶液とし、試料溶液のキャリア溶液としては pH 11.5 の 0.4M Na_2HPO_4 -NaOH 緩衝液

を用い、流速を 154 $\mu\text{l}/\text{min}$ に設定し、測定温度は 25 °C とした。

【0029】市販の使い捨て型シリンジの内部にメンブランフィルターを入れ、デバルダ合金微粒子 g を充填し、4.5ml の亜硝酸イオン標準液を導入し、5 分間経過後にキャリア用緩衝液の流路に注入して蛍光強度のピーク面積を測定した。結果は図 9 に示されている通りであり、応答値とアンモニウムイオン濃度との間には極めて良好な相関性 (相関係数 : 0.928) が得られた。

この図 9 に示されるグラフは、 $\text{蛍光強度} = 15819 \times [\text{亜硝酸イオン濃度 mg/l}] + 168013$ なる近似関係式で良好に表されるものであり、従って検量線として使用することができる。尚、亜硝酸イオン濃度が 1mg/l の場合における蛍光強度の相対標準偏差は 2.89% (n=5) であり、再現性も極めて良好なことも判明した。

【0030】測定試験例 4 (従来法との相関)

硝酸ナトリウムを用いて硝酸イオン濃度が 10 - 40mg/l の範囲内の各種濃度の標準液を調製し、これらの各標準液を試料溶液として既述の測定試験例 1 に準じて本発明による硝酸イオン濃度の測定法と従来の吸光光度法 (カドミウム還元法) による測定法を実施した。結果は図 10 に示されている通りであり、相関係数 : 0.954、回帰式 $y = 1.233x - 4.312$ であって良好な相関を示した。

【0031】測定試験例 5 (実試料の測定)

別個の河川から採取した 2 種類の河川水を対象として、これらの河川水中に含有されている硝酸イオン濃度及びアンモニウムイオン濃度を本発明方法と従来法とにより測定した。本発明方法の場合には既述の測定試験例 1 及び 2 に記載されているように蛍光強度のピーク面積を測定し、応答値を図 7 及び 8 に示される検量線に照合することにより行い、従来法については吸光光度法 [JISK0102.43.2.5 (硝酸イオン) 並びに JIS K0102.4 2.1 及び 42.2 (アンモニウムイオン)] による測定法を採用した。結果は下記の表 1 に示される通りであり、本発明方法は実際の河川水等にも適用可能であることが判明した。尚、硝酸イオン濃度及びアンモニウムイオン濃度の測定所要時間は、本発明方法の場合に何れも約 7 分間であったが、従来法の場合には共に約 60 分間であった。

【0032】

【表 1】

測定対象イオン	本発明方法 (mg/l)	従来法 (mg/l)
硝酸イオン	4.58	8.7
	9.09	9.8
アンモニウムイオン	0.47	0.45
	0.18	0.34

【0033】

【発明の効果】本発明によれば河川水等の試料を対象とし、該試料溶液中に含有されている窒素化合物イオンであるアンモニウムイオン、硝酸イオン及び亜硝酸イオンを還元してアンモニアに変じ、このアンモニアと蛍光反応試薬とを反応させて蛍光物質を形成させ、該蛍光物質の蛍光強度のピーク面積を測定し、この測定値を検量線に照合することにより上記イオンの濃度が測定される。試料溶液を還元性金属、例えばデバルダ合金と予め接触させれば、上記イオンのアンモニアへの変換を確実なものとすることができる。本発明による測定法において要求される基本的な手技は試料を定量採取すること及びこれをキャリアー溶液の流路に導入することのみであり、従って操作が極めて簡便であって熟練が要求されず、測定所要時間も 10 分間以内であり、従来の吸光光度法やイオンクロマトグラフィー法と比較する場合に格段に有利である。

【図面の簡単な説明】

【図 1】本発明による窒素化合物イオン測定装置の 1 実施形を示す略示図である。

【図 2】本発明による窒素化合物イオン測定装置の他の 1 実施形を示す略示図である。

【図 3】図 1 に示された装置を用い、種々の標準濃度の塩化アンモニウム溶液を試料溶液として測定を行い、試料溶液中のアンモニウムイオン濃度と測定された蛍光強度との関係をプロットしたグラフである。

【図 4】一定濃度の塩化アンモニウム溶液を試料溶液として蛍光反応を行う際の温度条件が蛍光強度に及ぼす影響を調べた結果を示すグラフである。

【図 5】一定濃度の塩化アンモニウム溶液を試料溶液として蛍光反応を行う際に流速が蛍光強度に及ぼす影響を調べた結果を示すグラフである。

【図 6】一定濃度の塩化アンモニウム溶液を試料溶液とし、キャリアーとしての緩衝液の pH を種々に変化させ

て蛍光反応を行い、キャリアー溶液の pH が蛍光強度に及ぼす影響を調べた結果を示すグラフである。

【図 7】図 2 に示された装置を用い、種々の標準濃度の硝酸ナトリウム溶液を試料溶液として測定を行い、試料溶液中の硝酸イオン濃度と測定された蛍光強度のピーク面積との関係をプロットしたグラフであり、硝酸イオン濃度の測定において検量線となるものである。

【図 8】図 2 に示された装置を用い、種々の標準濃度の塩化アンモニウム溶液を試料溶液として測定を行い、試料溶液中のアンモニウムイオン濃度と測定された蛍光強度のピーク面積との関係をプロットしたグラフであり、アンモニウムイオン濃度の測定において検量線となるものである。

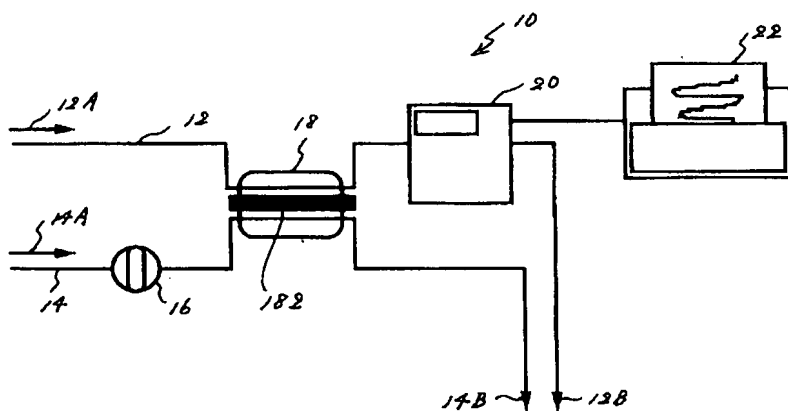
【図 9】図 2 に示された装置を用い、種々の標準濃度の亜硝酸ナトリウム溶液を試料溶液として測定を行い、試料溶液中の亜硝酸イオン濃度と測定された蛍光強度のピーク面積との関係をプロットしたグラフであり、亜硝酸イオン濃度の測定において検量線となるものである。

【図 10】硝酸イオン濃度が既知の種々の硝酸ナトリウム溶液を試料溶液として本発明方法及び従来の吸光光度法とにより硝酸イオン濃度を測定した結果を示すグラフであり、両方法の相関関係を示すものである。

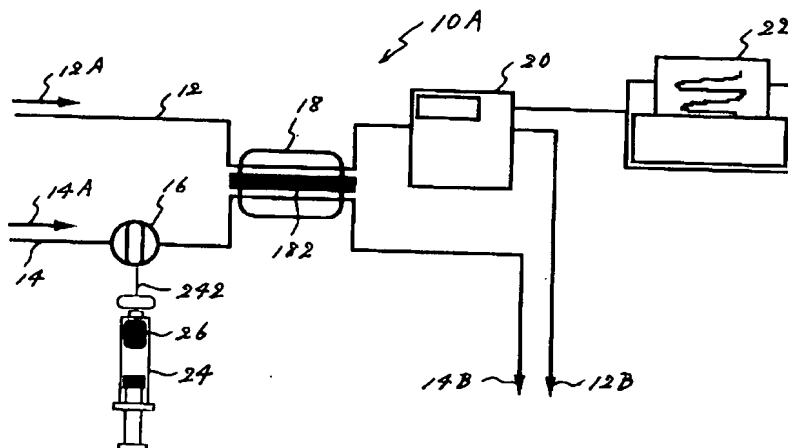
【符号の説明】

- 10, 10A : 本発明による窒素化合物の測定装置、
- 12 : 蛍光反応試薬の流路、
- 14 : 試料のキャリアーとしての緩衝液の流路、
- 16 : インジェクター、
- 18 : 反応室、
- 182 : ガス透過性膜、
- 20 : 蛍光測定装置、
- 22 : インテグレーター、
- 24 : 試料注入用のシリンジ、
- 26 : フィルタと還元性金属からなる還元用カラム

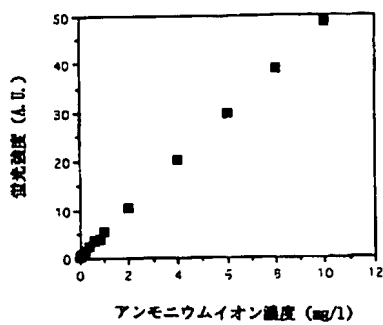
【図1】



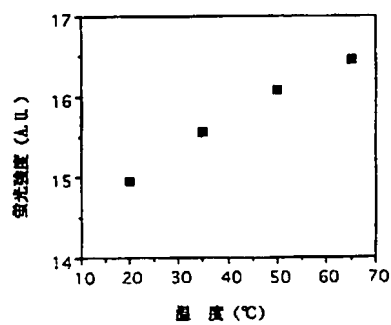
【図2】



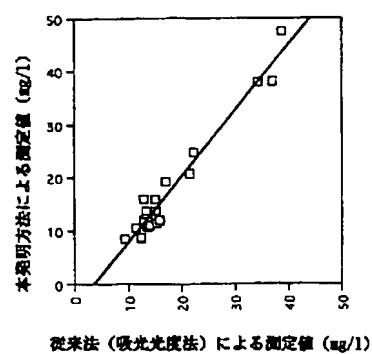
【図3】



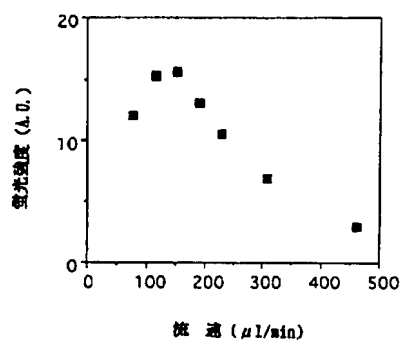
【図4】



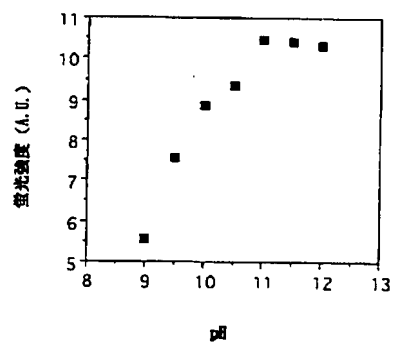
【図10】



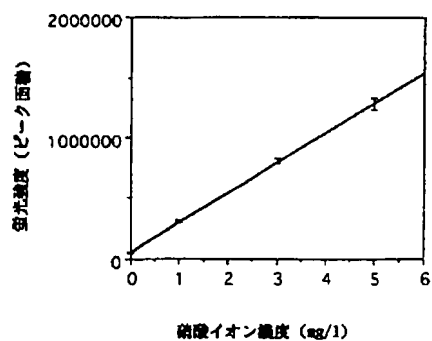
【図5】



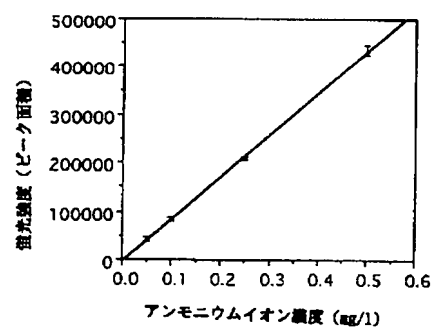
【図6】



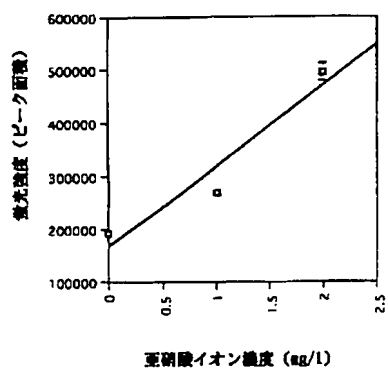
【図7】



【図8】



【図9】



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-125600

(43)Date of publication of application : 11.05.1999

(51)Int.Cl.

G01N 21/78

G01N 31/00

(21)Application number : 09-289515

(71)Applicant : KASEN JOHO CENTER
KARUBE MASAO

(22)Date of filing : 22.10.1997

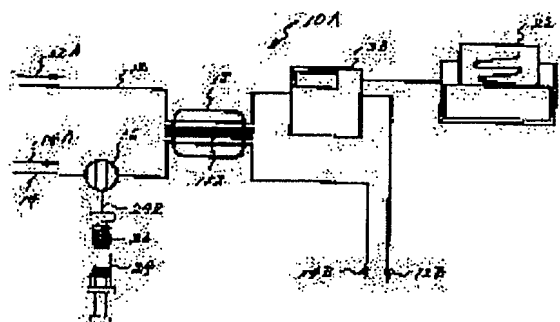
(72)Inventor : KARUBE MASAO
NISHIHARA TAKUMI

(54) HIGH-SENSITIVITY METHOD AND DEVICE FOR MEASURING NITROGEN COMPOUND ION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method and a device for measuring nitrogen compound ion with high sensitivity.

SOLUTION: Ammonium ion, nitrate ion, and nitrite ion in a sample such as river water are made ammonia, the ammonia is reacted with a fluorescein reaction reagent flowing into a reaction room 18, having a gas-permeable membrane 182, separated by the membrane 182 for forming a fluorescein material, the fluorescein intensity change of the reaction liquid is measured, a response value is compared with a calibration line, and the concentration of a nitrogen compound ion is measured. The conversion to the ammonium can be positively made by bringing the sample into contact with reducing metal before flowing into the reaction room 18. Only a fluorescein detector 20 and an integrator 22 are required. Therefore, operation is extremely simple as compared with the conventional absorptiometric method, sensitivity is high, at the same time, required time is extremely short, and measurement equipment is inexpensive as compared with an ion chromatography method.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

* NOTICES *

JPO and NCIP1 are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] Lead a fluorescent reaction reagent to the reaction chamber equipped with the gas permeability film, and, on the other hand, the sample solution is mixed in the buffer solution as a carrier. Lead to the above-mentioned reaction chamber after changing the ammonium ion, nitrate ion, and nitrite ion in the sample solution into ammonia, and ammonia and a fluorescent reaction reagent are made to react through the above-mentioned gas permeability film. The high sensitivity measuring method of the nitride ion which detects the fluorescence of the generated fluorescent material, measures the temporal response of fluorescence intensity, and is characterized by collating with the calibration curve which shows the relation between this measured value and the above-mentioned ion concentration.

[Claim 2] A fluorescent reaction reagent Claim characterized by combining o-phthalaldehyde, bromocresol green or a carboxy dimethyl fluorescein, and thiol compounds 1 High sensitivity measuring method of the nitride of a publication.

[Claim 3] fluorescent reaction reagent O-phthalaldehyde Claim characterized by containing 2-mercaptoethanol 1 or -- 2 High sensitivity measuring method of the nitride ion of a publication.

[Claim 4] The buffer solution as a carrier of the sample solution pH 11 Or claim characterized by being more than it 1-3 Any 1 High sensitivity measuring method of nitride ion given in **.

[Claim 5] Claim characterized by contacting the sample solution to a reducibility metal before making it react with a fluorescent reaction reagent 1-4 Any 1 High sensitivity measuring method of nitride ion given in **.

[Claim 6] Claim characterized by a reducibility metal being copper, aluminum, a zinc independent, mixture, or a Devarda's alloy 5 High sensitivity measuring method of the nitride ion of a publication.

[Claim 7] Claim characterized by measurement of fluorescence intensity being measurement of the peak area of fluorescence intensity 1 High sensitivity measuring method of the nitride of a publication.

[Claim 8] The high-sensitivity measuring device of the nitride ion characterized by to provide the fluorometry equipment which is the passage of a fluorescent reaction reagent, the passage of the buffer solution, the reaction chamber where the gas permeability film is separated and a fluorescent reaction reagent and the buffer solution

contact, and the passage of the buffer solution, is the injector for the sample solutions formed in the upstream of the above-mentioned reaction chamber, and the passage of a fluorescent reaction reagent, and was formed in the downstream of the above-mentioned reaction chamber, and the integrator which outputs the measurement data of this fluorometry equipment.

[Claim 9] Claim characterized by forming the column which is the passage of the buffer solution and was filled up with the reducibility metal between the injector and the reaction chamber 8 High sensitivity measuring device of the nitride ion of a publication.

[Claim 10] Claim which is equipped with the syringe which pours the sample solution into the passage of the buffer solution through an injector, and is characterized by filling up with the reducibility metal through a filter in this syringe 8 High sensitivity measuring device of the nitride ion of a publication.

[Translation done.]

*** NOTICES ***

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to the high sensitivity measuring method of nitride ion, and the equipment for it, it returns to ammonia the ammonium ion, nitrate ion, and nitrite ion which are nitride ion which exists in acid rain and the river water middle class among an environment especially, makes this ammonia and a fluorescent reaction reagent react, and relates to the high sensitivity measuring method of the nitride ion performed by measuring fluorescence intensity, and the equipment for it.

[0002]

[Description of the Prior Art] The typical approaches currently used widely although various the approaches of measuring the above-mentioned nitride ion which exists in an environment are proposed are colorimetric methods, such as an indophenol method. (absorptiometry) It is the ion chromatography method.

[0003] In order to obtain a quantitative result with a colorimetric method, there is the need of performing spectrometry frequently, and there is a case where a right quantum becomes impossible under the effect of light-scattering matter, such as dust contained in the sample in that case. In addition, it is a measurable molecule by the colorimetric method. 1 It is only a class, and in order to measure the concentration of the ammonium ion which exists in the acid rain which is a sample, or river water, nitrate ion, and nitrite ion, a technical problem is in the point that the separate system of measurement which corresponded, respectively must be prepared.

[0004] On the other hand, although the ion chromatography method is high, therefore is exact, a technical problem is in the point that actuation by the point that equipment itself and a column are expensive, and the skillful engineer may be required, and it installs in many measure points, and upwards measures on the spot, and a technical problem is in an unsuitable point. [of the accuracy of measurement]

[0005]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] Therefore, the technical problem which this invention tends to solve thru/or the object of invention are to offer the high sensitivity measuring method of nitride ion with simple actuation, and the equipment for it. ---

[0006]

[Means for Solving the Problem] According to this invention approach, a fluorescent reaction reagent is led to the reaction chamber equipped with the gas permeability film.

On the other hand, the sample solution is mixed in the buffer solution as a carrier. The ammonium ion in the sample solution, Lead to the above-mentioned reaction chamber after changing nitrate ion and nitrite ion into ammonia, and ammonia and a fluorescent reaction reagent are made to react through the above-mentioned gas permeability film. It is this invention while the above-mentioned technical problem is solved by the high sensitivity measuring method of the nitride ion characterized by collating with the calibration curve which detects the fluorescence of the generated fluorescent material, measures the temporal response of fluorescence intensity, and shows the relation between this measured value and the above-mentioned ion concentration. 1 The object is attained.

[0007] It sets to this invention approach and is a fluorescent reaction reagent. It can use combining o-phthalaldehyde, bromocresol green or a carboxy dimethyl fluorescein, and thiol compounds, such as 2-mercaptoethanol.

[0008] pH high as the buffer solution whose conversion to the ammonia of the ammonium ion in the sample solution, nitrate ion, and nitrite ion is a carrier when enforcing this invention approach what it has -- for example, -- pH or -- although it is possible by using the thing beyond it -- a reducibility metal, for example, copper, aluminum, zinc, etc. -- independent -- or it is desirable to contact combination, the Devarda's alloy which is an alloy of copper, aluminum, and zinc especially, and the sample solution.

[0009] The equipment for enforcing the above-mentioned this invention approach The passage of a fluorescent reaction reagent, and the passage of the buffer solution, The reaction chamber where the gas permeability film is separated and a fluorescent reaction reagent and the buffer solution contact, The injector for the sample solutions which is the passage of the buffer solution and was formed in the upstream of the above-mentioned reaction chamber, It is characterized by providing the fluorometry equipment which is the passage of a fluorescent reaction reagent and was formed in the downstream of the above-mentioned reaction chamber, and the integrator which outputs the measurement data of this fluorometry equipment.

[0010] In the equipment by this invention, it is the passage of the buffer solution and can have the column filled up with the above-mentioned reducibility metal between the above-mentioned injector and the reaction chamber.

[0011] In the equipment by this invention, it has the syringe which pours the sample solution into the passage of the buffer solution through the above-mentioned injector, and can also fill up with the reducibility metal through the filter in this syringe.

[0012] If the fluorescence of the fluorescent material which ammonia and a fluorescence reagent reacted and was generated as fluorometry equipment is detectable by high sensitivity, there will be no usable and exceptional definition, and they are an excitation wavelength field and a detection wavelength field. 200 to 800 nm Although it is important that it is extent, even if excitation wavelength and detection wavelength are fixed depending on the class of fluorescent reaction reagent, there is no inconvenience.

[0013] Although it is usable as an integrator if the data from fluorometry equipment can be outputted to accuracy, the temporal response of fluorescence intensity is caught, and it is 1. It is desirable that it is what can carry out time quadrature in the time resolution below a second.

[0014]

[Embodiment of the Invention] Next, it explains, referring to a drawing about the

measuring device of the nitride by this invention. drawing 1 **** — measuring device by this invention 10 an outline shows — having — **** — this drawing — setting — 12 the passage of a fluorescent reaction reagent — it is — a fluorescent reaction reagent — arrow head 12A it sends to the sense shown — having — arrow head 12B It is discharged out of a system so that it may be shown. Reference figure 14 Being shown is the sample solutions, such as acid rain and river water. (not shown) It is the passage of the buffer solution used as a carrier, and this buffer solution is an arrow head. 14A It is sent to the sense shown and is an arrow head. 14B It is discharged out of a system so that it may be shown. The basic buffer solution which has the capacity to change the ammonium ion, nitrate ion, and nitrite ion in a sample into ammonia as this buffer solution is used. Although liquid sending of these fluorescent reaction reagents and the buffer solution is performed by the pump, in order to enable stable liquid sending, a peristaltic pump is desirable, and the rate of flow is usual. 70–300 microl/min It is desirable to set up.

[0015] An above-mentioned fluorescent reaction reagent and an above-mentioned injector 16 The buffer solution with which it passed and the sample solution was poured in is a reaction chamber. 18 It is sent. This reaction chamber is the gas permeability film. 182 It has, an above-mentioned fluorescent reaction reagent and the above-mentioned sample content buffer solution separate this gas permeability film, and contact, and the ammonia in the buffer solution penetrates the gas permeability film, and generates a fluorescent material by contacting a fluorescent reaction reagent and reacting. For example, injector 16 When the sample solution passed through and poured in contains ammonium ion ammonium ion electric dissociation exponent a value — 9.24 it is — since — as the buffer solution which is the carrier of the sample solution pH 9.24 Ammonium ion serves as ammonia and gasifies. If the above thing is adopted Reaction chamber 18 It sets inside and is the gas permeability film. 182 It will penetrate, and will go into the passage of a fluorescent reaction reagent, and a fluorescent material will be formed. although it excels in chemical resistance as construction material of the above-mentioned gas permeability film, and a class will not be asked if ammonia is made to penetrate easily in ordinary temperature — Teflon (trademark) it can be .

[0016] In order to support changing the nitride ion in a sample into ammonia, and gasifying it, it is the passage of the buffer solution. 14 It sets and is an injector. 16 Reaction chamber 18 In between, it is a column for reduction. (not shown) It can arrange. This column arranges a membrane filter on ends, and is the simple substance of a reducibility metal little inside, for example, copper, aluminum, or zinc, mixture, or these. 3 It is filled up with the particle made from a Devarda's alloy which is the alloy which consists of a metal of a class, and is constituted.

[0017] the sample content buffer solution which passed through the reaction chamber — previous statement — like — and arrow head 14B it discards out of a system as shown — having — on the other hand — fluorescent material content liquid — reaction chamber 18 from — fluorometry equipment 20 after being led and measuring fluorescence intensity — previous statement — like — and arrow head 12B It is — discarded out of a system as shown. Above fluorometry equipment 20 The obtained data are an integrator. 22 It is sent, and it is regarded as a temporal response of fluorescence intensity, and is recorded.

[0018] drawing 2 **** — drawing 1 it is the same as that of the equipment shown —

however, syringe 24 using -- passage of the buffer solution 14 The sample solution is poured in. In this case, column for reduction which allotted a membrane filter and reducibility metal particles to that interior, and was formed in it in this syringe Equipment made as [support / use also as a container for hold of 26 and / conversion to the ammonia of the nitride ion in a sample] 10A It is shown. above-mentioned syringe 24 ***** -- needle in this syringe although it can be a commercial thing 242 a head -- injector 16 It is round made so that a blemish may not be given to the interior. Moreover, the construction material of a syringe and a needle should have resistance to the basic reagent. In addition, this equipment 10A The used measuring method is drawing. 1 Equipment shown 10 Since it is completely identical, explanation is abbreviated to a case.

[0019]

[Example] Although the example of a preliminary test and the example of a measurement trial explain this invention further below at a detail, the fluorescent reaction reagent and device which were used in common in these examples of a trial are as follows.

Fluorescent reaction reagent : O-phthalaldehyde (Aldrich shrine make) Ethanol solution (0.084g/(ml)) To 2.5ml pH 9.5 0.4M Boric acid-NaOH Buffer solution 150ml It adds and mixes. this 2-mercaptoethanol (Merck shrine make) Ethanol solution 0.0056g/ml 2.5ml It is an ascorbic acid as an anti-oxidant. (best article by Wako Pure Chem Industries) 1.5 ml water solution (0.18g/(ml)) It adds and mixes, prepares and is abbreviation at a room temperature. 1 It is used after time amount neglect.

liquid-sending pump : Gilson Shrine make Minipuls-3 (trademark) it is -- peristaltic pump.

Gas permeability film : Commercial Teflon (trademark) Thing of make.

Fluorometry equipment : Jasco Corp. make 821-FP Fluorescence detector with a mold flow cell (excitation wavelength :350nm, measurement wavelength :486nm) .

Integrator : made in Hitachi, Inc. D-2500 Mold integrator.

[0020] the 0.4M boric acid-NaOH buffer solution of example of preliminary test -- the carrier solution for the sample solutions -- carrying out -- and drawing -- fluorescence intensity was measured using the equipment shown in 1. 1 marketing (response to ammonium ion concentration) 1000 mg/l The ammonia standard solution (ammonium-chloride solution by Toa Electronics, Ltd.) suitably -- diluting -- ammonium ion concentration 10 mg/l up to -- a solution -- preparing -- the sample solution -- carrying out -- pH 9.5 a result -- drawing 3 as being shown -- it is -- concentration 0.01 mg/l from -- a response obtains -- having -- 0.04 mg/l from -- very good linearity was shown (correlation coefficient : 0.9996) . the relation top whose this invention assumes acid rain, river water, etc. as a real sample, and ammonium ion concentration 10 mg/l up to -- although measurement was performed by making a solution into the sample solution, what shows a linear response in a further high-concentration case is presumed.

[0021] example of a preliminary test 2 drawing (effect of the temperature exerted on a response value) 1 while using the equipment shown and warming the passage of the fluorescent reaction reagent in the upstream of a reaction chamber, and the buffer solution -- ammonium ion concentration 10-mg/l a solution -- preparing -- the sample solution -- carrying out -- and -- pH 9.5 0.4M Boric acid-NaOH Fluorescence intensity was measured for the buffer solution as a carrier solution for samples. A result is drawing. 4 It was as being shown, and it became clear that it became easy to generate

ammonia gas and a big response value was acquired, so that solution temperature became high. setting out of solution temperature 65 degrees C up to -- it was -- although -- a response value is presumed to be what becomes large, so that solution temperature is theoretically high.

[0022] Example of a preliminary test Three Drawing (effect of the rate of flow exerted on a response value) 1 The equipment shown is used and ammonium ion concentration 10 mg/l A solution is prepared, and it considers as the sample solution, and is pH 9.5. 0.4M Boric acid-NaOH The buffer solution was used as the carrier solution of the sample solution, and the response value was compared by changing the rotational frequency of the peristaltic pump for liquid sending, and measuring fluorescence intensity. a result -- drawing 5 as being shown -- it is -- rotational frequency of a pump 154microl/min it is -- it became clear that the biggest response value was shown in a case. The rate of flow of a carrier solution the reason 154microl/min Before the ammonia gas which occurred that it was above penetrates the gas permeability film and is spread thoroughly, it is presumed that it is for passing the detecting element of fluorescence detection equipment, and it is the rate of flow. Within the limits of 70-300microl/min, it is . 150microl/min It became clear that it should have been set as extent.

[0023] Example of a preliminary test Four Drawing (effect pH of a carrier solution affects a response value) 1 The equipment shown is used. Ammonium ion concentration 10 mg/l Prepare a solution and it considers as the sample solution. pH 9-10.5 0.4M Boric acid-NaOH the buffer solution -- and -- pH 11.5-12.0 0.4M Na₂HPO₄-NaOH The buffer solution is used as the carrier solution of the sample solution. It is the rate of flow by adjusting the rotational frequency of the peristaltic pump for liquid sending 154microl/min. The response value was compared by setting up and measuring fluorescence intensity. a result -- drawing 6 as being shown -- it is -- pH 11 until -- pH although a response value becomes large so that it is expensive -- pH 11 Above, a difference was hardly accepted. As this cause, it is a carrier solution. pH 11 This ammonia from which the ammonium ion in a sample will all almost change to ammonia gas if it is extent O-phthalaldehyde It is possible that the reaction with 2-mercaptoethanol reached the saturation state, that the gas permeability film reached the transparency limitation of ammonia gas, etc. Anyway, it is a carrier solution. pH 11 Or when using the buffer solution beyond it, also in ordinary temperature, it became clear that the nitride ion in the sample solution could be transformed to ammonia nearly thoroughly.

[0024] Example of a measurement trial One Drawing (calibration curve about nitrate ion concentration) 2 Relation with the peak area of nitrate ion concentration and fluorescence intensity was investigated using equipment as shown. a sodium nitrate -- using -- nitrate ion concentration 0. -- 1 and 3 And 5 mg/l the standard solution -- preparing -- the sample solution -- carrying out -- as the carrier solution of the sample solution -- pH 11.5 0.4M Na₂HPO₄-NaOH the buffer solution -- using -- the rate of flow 154microl/min setting up -- measurement temperature 25 degrees C ** -- it carried out.

[0025] A membrane filter is put into the interior of a commercial disposable mold syringe, and it is a Devarda's alloy particle. 0.2g It loads and is 4.5ml. The nitrate ion standard solution was attracted in the syringe, it poured into the passage of the buffer solution for carriers after progress for 5 minutes, and the peak area of fluorescence intensity was measured. A result is drawing. 7 It is as being shown and is functionality very good

between a response value and nitrate ion concentration. (correlation coefficient : 0.999) It was obtained. This drawing 7 The graph shown is fluorescence intensity. = $247000 \times (\text{nitrate ion concentration}) + 57500$ It is expressed with approximation relational expression good, and can be used [therefore] as a calibration curve. In addition, nitrate ion concentration 5 mg/l Relative standard deviation of the fluorescence intensity of a case It is 3.6% (n = 5), and repeatability and a very good thing became clear.

[0026] Example of a measurement trial Two Drawing (calibration curve about ammonium ion concentration) 2 Relation with the peak area of ammonium ion concentration and fluorescence intensity was investigated using equipment as shown. an ammonium chloride -- using -- ammonium ion concentration 0.05 and 0. -- 1 and 0.25 and -- 0.5 mg/l the standard solution -- preparing -- the sample solution -- carrying out -- as the carrier solution of the sample solution pH 11.5 0.4M Na₂HPO₄-NaOH the buffer solution -- using -- the rate of flow 154microl/min setting up -- measurement temperature 25 degrees C ** -- it carried out.

[0027] ** [it puts a membrane filter into the interior of a commercial disposable mold syringe and does not use a Devarda's alloy] 4.5ml The ammonium ion standard solution is introduced and it is 5. It poured into the passage of the buffer solution for carriers after progress between parts, and the peak area of fluorescence intensity was measured. A result is drawing. 8 It is as being shown and they are a response value and ammonium ion concentration. Functionality very good in between (correlation coefficient : 1.000) It was obtained. This drawing 8 The graph shown is fluorescence intensity. = $867000 \times (\text{ammonium ion concentration}) - 1900$ It is expressed with approximation relational expression good, and can be used [therefore] as a calibration curve. in addition, ammonium ion concentration 0.5 mg/l it is -- relative standard deviation of the fluorescence intensity of a case 2.4% (n = 5) it is -- repeatability and a very good thing became clear.

[0028] Example of a measurement trial Three Drawing (calibration curve about nitrite ion concentration) 2 Relation with the peak area of nitrite ion concentration and fluorescence intensity was investigated using equipment as shown. Nitrite ion concentration using a sodium nitrite 1 It reaches. 2 mg/l The standard solution is prepared, and it considers as the sample solution, and is a carrier solution of the sample solution. pH 11.5 0.4M Na₂HPO₄-NaOH The buffer solution is used and it is the rate of flow. 154microl/min It sets up and is measurement temperature. 25 degrees C It carried out.

[0029] A membrane filter is put into the interior of a commercial disposable mold syringe, and it is a Devarda's alloy particle. g It loads and is 4.5ml. The nitrite ion standard solution is introduced and it is 5. It poured into the passage of the buffer solution for carriers after progress between parts, and the peak area of fluorescence intensity was measured. A result is drawing. 9 It is as being shown and is functionality very good between a response value and ammonium ion concentration. (correlation coefficient : 0.928) It was obtained. This drawing 9 The graph shown is fluorescence intensity. = $15819 \times [\text{Nitrite ion concentration mg/l}] + 168013$ It is expressed with approximation relational expression good, and can be used [therefore] as a calibration curve. in addition, nitrite ion concentration 1 mg/l it is -- the relative standard deviation of the fluorescence intensity of a case -- 2.89% (n = 5) it is -- repeatability and a very good thing became clear.

[0030] Example of a measurement trial Nitrate ion concentration using 4 sodium nitrates (correlation with a conventional method) 10–40 mg/l It is an example of a measurement trial as stated above, preparing the standard solution of various concentration within the limits, and using each of these standard solutions as the sample solution. 1 The measuring method of the nitrate ion concentration apply correspondingly and according to this invention, and the conventional absorptiometry (cadmium reduction) The measuring method to depend was enforced. a result -- drawing 10 as being shown -- it is -- correlation coefficient : 0.954 and regression $y = 1.233x - 4.312$ it is -- good correlation was shown.

[0031] Example of a measurement trial Five It extracted from the separate (measurement of a real sample) river. 2 The nitrate ion concentration and ammonium ion concentration which are contained in these river water for the river water of a class were measured with this invention approach and the conventional method. Example of a measurement trial of previous statement in the case of this invention approach 1 It reaches. 2 The peak area of fluorescence intensity is measured as indicated. It is drawing about a response value. 7 It reaches. 8 It carries out by collating with the calibration curve shown. About a conventional method, it is an absorptiometry. In [JISK0102.43.2.5 (nitrate ion) list JIS K0102.42.1 and 42.2] (ammonium ion) The measuring method to depend was adopted. A result is the following table. 1 It is as being shown and it became clear for this invention approach to have been applied to actual river water etc. In addition, in the case of this invention approach, the measurement duration of nitrate ion concentration and ammonium ion concentration is all abbreviation. 7 In both the cases of a conventional method, it is abbreviation although it was between parts. 60 It was between parts.

[0032]

[A table 1]

測定対象イオン	本発明方法 (mg/l)	従来法 (mg/l)
硝 酸 イ オ ン	4.58	8.7
	9.09	9.8
アンモニウムイオン	0.47	0.45
	0.18	0.34

[0033]

[Effect of the Invention] According to this invention, return the ammonium ion, nitrate ion, and nitrite ion which are nitride ion contained in this sample solution for samples, such as river water, and change to ammonia, and make this ammonia and a fluorescent reaction reagent react, a fluorescent material is made to form, the peak area of the fluorescence intensity of this fluorescent material is measured, and the concentration of the above-mentioned ion is measured by collating this measured value with a calibration curve. If the sample solution is beforehand contacted to a reducibility metal, for example, a Devarda's alloy, conversion to the ammonia of the above-mentioned ion can be made

into a positive thing. the fundamental technique set [is boiled and] and required of the measuring method by this invention is only introducing carrying out quantum extraction of the sample, and this into the passage of a carrier solution, therefore its actuation is very simple, and skill requires it -- not having -- measurement duration 10 a part -- between -- less than -- it is -- it is alike and advantageous in comparison with the conventional absorptiometry or the ion chromatography method.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. **** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] Nitride ion measuring device by this invention 1 It is the sketch showing an operation form.

[Drawing 2] Everything but the nitride ion measuring device by this invention 1 It is the sketch showing an operation form.

[Drawing 3] Drawing 1 It is the graph which measured using the shown equipment by having made the ammonium-chloride solution of various standard concentration into the sample solution, and plotted the relation between the ammonium ion concentration in the sample solution, and the measured fluorescence intensity.

[Drawing 4] It is the graph which shows the result of having investigated the effect the temperature conditions at the time of performing a fluorescent reaction by making the ammonium-chloride solution of fixed concentration into the sample solution affect fluorescence intensity.

[Drawing 5] In case a fluorescent reaction is performed by making the ammonium-chloride solution of fixed concentration into the sample solution, it is the graph which shows the result of having investigated the effect the rate of flow affects fluorescence intensity.

[Drawing 6] the ammonium-chloride solution of fixed concentration -- the sample solution -- carrying out -- the buffer solution as a carrier pH many things are boiled and it changes -- making -- a fluorescent reaction -- carrying out -- carrier solution pH It is the graph which shows the result of having investigated the effect affect fluorescence intensity.

[Drawing 7] Drawing 2 It measures using the shown equipment by making the sodium-nitrate solution of various standard concentration into the sample solution, and it is the graph which plotted relation with the peak area of the nitrate ion concentration in the sample solution, and the measured fluorescence intensity, and becomes a calibration curve in measurement of nitrate ion concentration.

[Drawing 8] Drawing 2 It measures using the shown equipment by making the ammonium-chloride solution of various standard concentration into the sample solution, and it is the graph which plotted relation with the peak area of the ammonium ion concentration in the sample solution, and the measured fluorescence intensity, and becomes a calibration curve in measurement of ammonium ion concentration.

[Drawing 9] Drawing 2 It measures using the shown equipment by making the

sodium-nitrite solution of various standard concentration into the sample solution, and it is the graph which plotted relation with the peak area of the nitrite ion concentration in the sample solution, and the measured fluorescence intensity, and becomes a calibration curve in measurement of nitrite ion concentration.

[Drawing 10] It is the graph which shows the result to which nitrate ion concentration measured nitrate ion concentration with this invention approach and the conventional absorptiometry by making known various sodium-nitrate solutions into the sample solution, and the correlation of a method is both shown.

[Description of Notations]

10 10A : Measuring device of the nitride by this invention,

12 : Passage of Fluorescent Reaction Reagent,

14 : Passage of Buffer Solution as a Carrier of Sample,

16 : Injector,

18 : Reaction Chamber,

182 : Gas Permeability Film,

20 : Fluorometry Equipment,

22 : Integrator,

24 : Syringe for Sample Impregnation,

26 : Column for Reduction Which Consists of a Filter and a Reducibility Metal

[Translation done.]